International Journal of Advanced Engineering Research and Science (IJAERS)
Peer-Reviewed Journal
ISSN: 2349-6495(P) | 2456-1908(O)
Vol-10, Issue-6; Jun, 2023
Journal Home Page Available: https://ijaers.com/
Article DOI:https://dx.doi.org/10.22161/ijaers.106.5

# Environmental and Economic Values of salt tolerance. *Euphorbia tirucalli:* Phytoremediation potential

Sandra Ávila Gaspar[1,2,6], Patrícia G. Musmanno[3], Gabriela M. Bellizzi[3], Krisna R. Kathar[4], Marcos T. Varricchio[5], Marcia C.B.N. Varricchio[3,6], Alexandre dos S. Pyrrho[6], Paulo S. T. Brioso[7], Simone da Silva[8]

[1]Ciências Agrárias/UFRRJ.
[2]Apiário Estação 4x4.
[3]FMP-UNIFASE.
[4]Farmácia-UNESA
[5]Engenharia elétrica – Sênior.
[6]Projeto Saúde Ambiental, Parasitologia, Bioética (SAPB-LIPAT/FF/DCE/UFRJ).
[7]Engenharia Agronômica – Laboratório Oficial de Diagnóstico Fitossanitário/UFRRJ.
[8]Centro de Bionegócios da Amazônia (CBA) e Instituto de Tecnologia e Educação Galileo da Amazonia (ITEGAM).

Received: 25 Apr 2023,

Receive in revised form: 01 Jun 2023,

Accepted: 08 Jun 2023,

Available online: 20 Jun 2023



***Keywords*— Phytoremediation, hypersalinity, filter gardens, Euphorbia tirucalli, phytodesalination**

***Palavras-chave*— Fitorremediação, hipersalinidade, jardins filtrantes, Euphorbia tirucalli, fitodessalinização**

***Abstract*— *Halophytes, such as Euphorbia tirucalli, are used for medicinal and economic purposes, as well as for the recovery of degraded environments through bioremediation or phytoremediation. In parallel, Vigna unguiculata, which also has high tolerance to saline environments, has high nutritional value generating economic interest. Furthermore, biofuel production can be reduced in cost and complexity if we use plant raw material that can grow in salinized and poor soils. The reduction of arable land, due to increased soil salinization and the depletion of freshwater resources, poses a threat to agricultural production. In this work we aimed to evaluate the saline stress in V. unguiculata seeds generated from the chemical elicitation of E. tirucalli and the solution of Spongia tosta 10DH. In the first experiment, we cultivated V. unguiculata in water with 10% solutions obtained from aerial parts of E.tirucalli from the coast of Rio de Janeiro. In the second experiment, we cultivated V. unguiculata, which were treated with E. tirucalli hormetic solution - 5H from Seropedica/RJ and Spongia tosta 10DH solution. In all experiments there was inhibition of germination associated to seed engorgement. In our tests, therefore, the evaluated extracts suggested that also will be able to act as phytoremediation agents, via desalination through the Na++/K+ pump mechanism. From our essays, observations and reasoned discussion, we postulate the hypothesis that E. tirucalli can act in filtering gardens of environmental pollutants by this way. Novel ecophysiological investigations will be carried out.***

***Resumo*— *Halófitas, como Euphorbia tirucalli, são usadas para fins medicinais, econômicos, bem com para recuperação de ambientes degradados através da biorremediação ou fitorremediação. Em paralelo a Vigna unguiculata, que também apresenta alta tolerância a ambientes salinos, tem alto valor nutricional gerando interesse econômico. Ademais, a produção de biocombustível pode ter custo e complexidade reduzidos se***

*usarmos matéria-prima vegetal que pode crescer em solos salinizados e pobres. A redução da terra arável, devido ao aumento da salinização do solo e ao esgotamento dos recursos de água doce, representa uma ameaça à produção agrícola. Neste trabalho objetivamos avaliar o estresse salino em sementes de V. unguiculata gerado, a partir da elicitação química de E. tirucalli e a de solução de Spongia tosta 10DH. No primeiro experimento, cultivamos V. unguiculata em água com soluções obtidas de partes aéreas de E. tirucalli a 10% oriunda do litoral do Rio de Janeiro. No segundo experimento, cultivamos V. unguiculata, que foram tratados com solução hormética de E. tirucalli - 5H de Seropédica/RJ e solução de Spongia tosta 10DH. Em todos os experimentos houve inibição da germinação associado à ingurgitação das sementes. Em nossos ensaios, portanto, os extratos avaliados sugeriram que também poderão agir como agentes de fitorremediação, via dessalinização através do mecanismo de bomba $Na^{++}/K^{+}$. A partir de nossos ensaios, observações e discussão fundamentada, postulamos a hipótese de que E. tirucalli, possa atuar em jardins filtrantes de poluentes ambientais por esta via. Novas investigações ecofisiológicas serão realizadas.*

## I. INTRODUÇÃO

Em acordo com Koyro et al. (2011), de fato, a espécie vegetal halófita *E. tirucalli* é usada desde 8.000 anos a.C. por povos originários em etnomedicina, em medicinas tradicionais ao redor do planeta. Para dores provocadas pelos surtos reacionais de Hanseníase, e em medicina popular brasileira para dor do Câncer. Frequentemente citada para dores intensas que não cedem, mesmo com o uso de analgésicos potentes, sugerindo assim, para além do efeito analgésico, um efeito anti-inflamatório que, dentre os vários mecanismos já estudados que constam na literatura, poderá ser por ação mineralocorticoide (Varricchio et al., 2008).

Plantas possuem diversos empregos, desde a produção de extratos para uso medicinal e empregos econômicos, até para a recuperação de ambientes degradados. Halófitas são espécies vegetais tolerantes a ambientes hipersalinos, crescem em pântanos costeiros de maré e são chamadas de plantas de mangue. Elas fornecem produtos como carvão, lenha, madeira, mel e produtos da pesca (Eshel et al., 2010).

Quando utilizadas para remoção de microrganismos em excesso ou com potencial invasivo, denominamos biorremediação. Enquanto que para remoção de substâncias em quantidades excessivas ou mesmo tóxicas para o solo ou para água, denominamos fitorremediação, efeito que ocorre por mecanismos diversos, exercido pela capacidade de determinadas espécies vegetais, dentre elas as halófitas (Kathar et al., 2023). Atualmente, a ideia da construção de pequenos jardins filtrantes, com vegetação específica ("wetlands constructed"), visa favorecer ao monitoramento da eficiência da remoção de substância indesejável ao ambiente, já determinada por equações. Tal construção parece-nos bastante apropriada, por poder haver variações em suas dimensões, ampliando o potencial de recuperação de diferentes ambientes (Kathar et al., 2023).

É antigo o estudo sobre a participação de halófitas em fitorremediação, e existem vários mecanismos de ação descritos para este efeito de fitorremediação. De acordo com a substância que se queira remover do solo ou da água poderá ser necessário escolher um ou dois mecanismos que sejam complementares (preferencialmente), e isto determinará a escolha da espécie vegetal. Na literatura, espécies vegetais halófitas são citadas pelo seu potencial em fitorremediação, dentre elas, *Euphorbia tirucalli* (Aveloz) e Tamarix sp. (Eshel et al., 2010).

Halófita, como *E. tirucalli L,* é uma boa fonte de forragem barata e nutritiva para animais (Varricchio, 2008). Digno de nota, plantas halófitas também possuem papel na proteção da região costeira da radiação UV-B, perante o aumento do nível do mar, em erosão costeira, na fúria dos ciclones, na ação das ondas e no efeito estufa (Kathiresan, 2012).

*E. tirucalli* é uma espécie suculenta, de origem africana com distribuição cosmopolita, que apresenta múltiplas e contraditórias atividades, devido ao látex rico em ésteres diterpênicos com esqueletos de tiglianos, ingenanos e dafnanos, possuindo melhor desenvolvimento em solos pobres em nitrogênio. Além do parênquima clorofiliano, do xilema e do floema, desenvolve uma quarta circulação por intermédio da via de morte celular programada,

possivelmente atribuída à detecção pela CLAE associada ao espectro de absorção UV de um ingenano, sugerido como marcador químico-biológico, desenvolvendo a partir daí ductos laticíferos para a produção de látex tóxico, conforme a literatura descreve a espécie de origem africana (Fürstenberger & Hecker, 1986 apud Varricchio, 2008).

Em paralelo, o etnosaber negro descreve o uso de Feijão-Caupi (*Vigna unguiculata*) na culinária negra da África e da Ásia (Dahmer et al., 2008)**.** Também no Brasil na região norte e nordeste, além de cidades do estado do Rio de Janeiro onde existiram fazendas escravagistas e quilombos. Conhecido como feijão Caupi, apresenta alta tolerância a ambientes salinos e apresenta alto teor nutricional. Por isso, investigações para beneficiar sua germinação são de interesse econômico'. Tóxica em solos hipersalinos, produz ésteres diterpênicos de forbol, de ação nanomolar, indutores de peroxidação lipídica. A planta de campo no jardim do IPPN/UFRJ, campus Ilha do Fundão, Baía de Guanabara, por nós estudada, não possui anatomia Kranz, revelando variações da produção química vegetal e de sua concentração relativa ao longo do dia e ao longo da produção anual – variando com a sazonalidade; seus efeitos biológicos sobre germinação variaram, também, quanto à região geográfica, geológica e pedológica no Brasil (Varricchio et al., 2008).

Os biocombustíveis são derivados de biomassa renovável e podem substituir, parcial ou totalmente, combustíveis derivados de petróleo e gás natural em motores a combustão ou em outro tipo de geração de energia. São fontes de energia alternativa que apresentam baixo índice de emissão de poluentes. Os dois principais biocombustíveis líquidos usados no Brasil são o etanol obtido a partir de cana-de-açúcar e, em escala crescente, o biodiesel, que é produzido a partir de óleos vegetais ou de gorduras animais e adicionado ao diesel de petróleo em proporções variáveis (BRASIL - GOVERNO FEDERAL, 2021).

A produção de biocombustíveis pode ser mitigada em seu custo e complexidade por matéria-prima vegetal, se conseguirmos identificar espécies alternativas além das culturas convencionais, que podem crescer em solos salinizados e pobres. Algumas halófitas têm alta taxa de crescimento e podem produzir biomassa lignocelulósica de alta qualidade contendo 26-37% de celulose, 24-38% de hemicelulose e <10% de lignina necessária para a produção de etanol (biocombustível). Halófitas como *E. tirucalli* podem produzir alta biomassa até mesmo sob condições extremas de deserto (Eshel et al., 2010).

Mwine & van Damme, (2011) descreve-a como oriunda de Madagascar, possuidora de metabolismo CAM facultativo, exibindo anatomia de Kranz, sendo considerada uma planta fóssil**,** portanto, uma fonte de biomassa e de biocombustível importante, uma vez que as fontes de petróleo estão se esgotando rapidamente e, em meados deste século, estima-se que 50% estarão esgotadas (Debez et al., 2017).

Ademais, a redução da terra arável, devido ao aumento da salinização do solo e ao esgotamento dos recursos de água doce, representam uma ameaça à produção agrícola (Sharma et al., 2016). Dentre os vários estresses abióticos, o aumento da salinidade do solo é considerada a maior ameaça à produção agrícola. Para superar esses problemas, diferentes ferramentas biotecnológicas são aplicadas para produzir variedades de culturas tolerantes e de alto rendimento.

*E. tirucalli* é tóxica em solos de alta salinidade, produz látex rico em ésteres diterpênicos de forbol, indutores de peroxidação lipídica de membrana capazes de ativação de diferentes isoformas de proteinocinase C, o que justifica o amplo interesse neste mecanismo (Koivunen et al., 2006 *apud* Varricchio, Silva, et al., 2008a).

Substâncias naturais que evocam estresse oxidativo fisiológico em sementes podem agir como elicitores de germinação por este mecanismo. Em estresse excessivo, essas isoformas ativadas passam a ser outras, fato que inibe a germinação em sementes.

Na época do Brasil Colônia, a reportagem sobre o uso do “Al-veloz”, atribui a chegada desta espécie no Brasil junto com os navios negreiros, durante o processo de escravização negra, contando que para sobreviverem e ainda terem força para cumprirem as tarefas durante a permanência no mar, os escravizados faziam sopa de Aveloz e tomavam, chamando-a de “sopa de axé”. Este prefixo “Al” sugere uma influência cultural do Oriente Médio em países do continente africano. A veracidade desta informação foi verificada em laboratório. Com o aquecimento suave (preparo a 37ºC – “banho-maria”), ocorreu o incremento de detecção à CLAE/UV de ingenanos, sugerindo o aumento no rendimento de substâncias polihidroxiladas ou talvez a inativação de substâncias tóxicas por lise de cadeias esterificadas (Varricchio et al., 2008b).

*E. tirucalli in situ* do mangue da Baía de Guanabara (campus Ilha do Fundão/UFRJ) evidenciou que embora as condições ambientais de tipo de solo, excesso de luminosidade e água salobra não tenham comprometido o desenvolvimento vegetal, sua produção química vegetal modificou em relação à literatura, tornando-se menos esterificada. Houve também o primeiro relato na literatura da presença de fungo endofítico no espécime estudado,

que poderá ser um outro mecanismo para explicar a variação química vegetal (Varricchio, 2008).

Portanto, para se compreender mecanismos de variação da produção química vegetal visando a eleição de marcadores químicos e biológicos, foram estabelecidos quais seriam os melhores protocolos de micropropagação, de acordo com a pesquisa a ser realizada. Uma vez que halófitas costumam desempenhar proteção na região costeira frente a radiação UV-B, foi verificado que diferentes fluências luminosas e UV-B geram estresse oxidativo nos explantes e modificam, assim, a detecção do tipo de clorofila. Além de clorofilas a, passaram a ser detectadas clorofila b e clorofilas não a/não b (estas últimas costumam ser detectáveis em indivíduos de origem marinha, evidenciando a necessidade de se investigar em paralelo aspectos geológicos da presença desta espécie vegetal no planeta (Varricchio et al., 2022a).

Para o espécimen estudado, na maioria dos cultivos em micropropagação desenvolvidos, sempre manteve-se o padrão de detecção qualitativa de diterpenóides polihidrofílicos. Contudo, perante à investigação de estresse salino, contraditoriamente, reagiu à variação excessiva de salinidade que ultrapassou seu limite de adaptação e fitoextração salina, passando a serem detectados ésteres aromáticos (dafnanos) (Varricchio, Silva, et al., 2008a).

A partir daí foram desenvolvidas várias investigações em cultivos clássicos e não convencionais buscando compreender o mecanismo para esta espécie, além do potencial de aplicação em biotecnologia vegetal e fitotecnologia.

Neste trabalho objetivamos avaliar o estresse salino, repercutindo, em nível biológico, sementes de *Vigna unguiculata* gerado, a partir da elicitação química de *E. tirucalli* oriunda de Seropédica (sítio geológico de vulcão extinto no Rio de Janeiro), oriunda do litoral do Rio de Janeiro e a de produto natural de origem marinha sob formulação infinitesimal, através da análise de fatores abióticos.

## II. METODOLOGIA

2.1.Certificação botânica e descrição do caule:

A exsicata de *Euphorbia tirucalli* foi preparada a partir de exemplares da planta cultivados no jardim do Instituto de Pesquisa de Produtos Naturais (IPPN). Os espécimes do material controle foram depositados no herbário do Museu Nacional do Rio de Janeiro/UFRJ sob o Registro Botânico R - 204.406 pela professora Luci de Senna Valle. É uma planta da família Euphorbiaceae, gênero Euphorbia.

A epiderme é unisseriada, constituída por células com paredes anticlinais retas a levemente sinuosas, recobertas por estrato cuticular espesso, que se projeta entre as paredes anticlinais das células epidérmicas. Os estômatos estão localizados em recessos abaixo do nível das células epidérmicas. As câmaras subestomáticas são bastante desenvolvidas, sendo formadas por células levemente braciformes. A região cortical é formada pelo parênquima clorofilado constituído por numerosas camadas celulares arredondadas. Existem fibrosclereides dispersos no córtex e fibras pericíclicas sozinhas ou em pequenos aglomerados (2-10).

Produtos lácteos de paredes espessas são encontrados próximos ao cilindro vascular. O cilindro vascular encontra-se em estágio inicial de desenvolvimento, sendo o floema secundário formado por tubos crivados com placas crivadas simples, que podem ser solitários ou em grupos de até dez células. Os tubos peneirados têm uma a duas células companheiras. O xilema secundário é formado por elementos de vasos predominantemente solitários, podendo eventualmente conter grupos de duas a cinco células. O parênquima axial é escasso paratraqueal. A região medular é formada por células parenquimatosas com formato semelhante às células corticais que diferem, porém, pela ausência de cloroplastos. Ausência de anatomia de Kranz.

Na natureza, látex e estruturas funcionais não ficam em contato, sendo isolados devido à presença de ductos laticíferos, ductos constituídos por células mortas, essencialmente condutores de látex (Milanez & Monteiro Neto, 1956). A programação da formação dos ductos laticíferos evita que o látex mais irritante ou tóxico produzido como uma reação de defesa às variações ambientais, entre em contato com os tecidos vegetais, como o floema e o xilema da planta (Hunter, 1994; Pennell & Lamb, 1997). Durante a injúria ao caule, rico em α-amilase, a liberação da enzima pode também promover lise do látex, possuidor de ácidos graxos insaturados, que desencadeiam a auto-oxidação rendendo novos terpenoides (Fürstenberger & Hecker, 1977). Este mecanismo explicado por estes autores foi citado e justificou a oxidação observada em algumas micropropagações realizadas (Varricchio et al., 2008a).

Digno de nota, existe o relato de resultado diferente quanto ao estudo morfológico do indivíduo vegetal do jardim do IPPN/UFRJ por nós estudado. É citada a presença da anatomia de Kranz na espécie de origem africana, que possui metabolismo CAM em função das condições áridas em que o indivíduo vegetal por eles estudado estava submetido, dentre elas, hiper luminosidade, altas temperaturas, excesso de vento,

altitude, além do solo ácido e hipersalino (Mwine & van Damme, 2011).

2.2.Experimento com extrato vegetal de *E.tirucalli* oriunda de solo hipersalino:

Foi realizado o cultivo assistido de *V. unguiculata* em água com soluções obtidas à temperatura ambiente de extratos totais aquosos de partes aéreas de *E. tirucalli* a 10% oriunda do litoral, coletado em praia de Búzios/RJ/Brasil que pertence ao domínio tectônico de Cabo Frio (Fig.1). O cultivo em água de *V. unguiculata* foi realizado inserindo-se três sementes em cada recipiente, em decuplicata; totalizando N = 120 entre soluções-controle e soluções-teste). Foi verificada curva de ação/tempo nas dosagens 10,0mL, 1,0mL e 0,1mL em recipientes com 100mL de água mineral da marca Petrópolis. Para a análise dos fatores abióticos, em tela, mediu-se pH, presença de cloro livre, da alcalinidade total e presença de ácido cianúrico pelo método colorimétrico com fitas da marca Aquachek e as temperaturas médias dos grupos foi medida pelo Infrared termometer B-Max, no primeiro, terceiro e sexto dias de cultivo.

*Fig.1: Euphorbia tirucalli coletada em Búzios/RJ/Brasil.*

2.3.Experimento com SUD a partir de elemento marinho diluído e dinamizado pelo método Decimal Hahnemannniano (DH).

Foram inseridas três sementes de feijão Caupi coletado em Seropédica/RJ/Brasil, em dez copos para cada fileira contendo soluções-controle e soluções-teste, perfazendo um total de seis fileiras com 180 sementes. Foi aplicada 01 gota (20µL) de cada solução do ensaio para cada fileira (Quadro 1). Foi medido o pH inicial das soluções e ao sétimo dia de cultivo foram aferidos pH, cloro livre, alcalinidade total e ácido cianúrico pelo método colorimétrico da marca Aquachek.

Como soluções-controle foram utilizadas água mineral da marca Petrópolis. Água destilada ultradiluída e dinamizada na potência 10DH e álcool 30% 10DH que são os solventes que entram no preparo da solução homeopática e foram comprados em farmácia comercial. A seguir, foi preparado extrato aquoso a 10% com água mineral à temperatura ambiente, retirado com pipeta o correspondente a $10^{-10}$, por nós denominado solução hormética de *E. tirucalli* - 5H - correspondendo à ultradiluição sem a dinamização/sucussão, baseados na metodologia proposta por Varricchio e colaboradores *In* (Bellizzi et al., 2022).

Foi adquirida comercialmente a solução ultradiluída e dinamizada 10DH de *Spongia tosta*, correspondendo ao ponto de partida (matriz) para outras ultradiluições e sucussões pelo Braço Mecânico Denise 10-50 marca CITUA, em função da falta de insumos no mercado, devido à pandemia. Todas as soluções são mostradas no Quadro 1:

*Quadro 1: Cultivos com extrato aquoso total de E. tirucalli de Seropédica/RJ, SUD de origem marinha e respectivos controles (30 sementes por fileira. N = 180).*

| **Soluções/30sementes para cada cultivo em decuplicata** |
|---|
| Água Mineral Petrópolis |
| SUD 10D Água destilada |
| SUD 10D Álcool 30% |
| SUD 10D *Spongia tosta* |
| *Euphorbia tirucalli* $10^{-10}$ (ou 5H) |
| *Euphorbia tirucalli* $10^{-10}$ (ou 5H) + SUD 10D *Spongia tosta* |

## III. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1.Experimento com extratos vegetais de *E. tirucalli* oriunda de solo hipersalino de Búzios:

Não ocorreu germinação em nenhuma das concentrações testadas deste preparo em relação ao controle com água mineral em sete dias de observação. Não ocorreu oxidação, necrose, nem contaminação fúngica. Estes resultados são diferentes dos nossos obtidos para extratos aquosos totais oriundos do recôncavo baiano, que evoluíram com necrose das sementes; e para os extratos do litoral paulista – Caraguatatuba e do litoral do RJ, que não apresentaram resposta biológica, enquanto que Pinto et al. (2019) verificaram que extratos aquosos totais da região serrana do Rio de Janeiro – Petrópolis, causaram estresse oxidativo sobre a película do feijão, fato que favoreceu ao crescimento de fungo do gênero Fusarium sp,, nas soluções (Oliveira et al., 2019).

Nossos resultados sugeriram que o efeito estressor biológico agiu como indutor de dormência nas sementes, conforme discutido por Musmano et al. (2019), que também verificaram este mesmo efeito para extratos aquosos totais oriundos do Centro-Oeste do Brasil.

O mecanismo de ação proposto, explicado por Varricchio et al.,(2008b) para *Euphorbia paralias* tratada com água do mar, também por Loreto & Velikova (2001) verificaram que a liberação de isoprenóides pelo caule contribuiu para diminuir a toxicidade desta e de outras espécies vegetais. Tais explicações nos auxiliaram na compreensão dos nossos resultados quanto à avaliação do extrato total aquoso a 10% do espécimen coletado no litoral, em praia selvagem, de Rio das Ostras/RJ/Brasil. Para este estudo foi observada ausência de necrose, oxidação, contaminação fúngica nas sementes e nenhum fenômeno nas soluções das fileiras de recipientes. Entretanto, ao longo do ensaio foi verificado que a temperatura e o pH das soluções aumentaram progressivamente como consequência das reações exotérmicas. Poderiam estar evaporando isoprenóides?

Investigações ecofisiológicas com instrumentos adequados precisarão ser realizadas, uma vez que ao manuseio dos explantes coletados, ocorreu a sensação de tonteira, de hilaridade seguida de sonolência. Este extrato de *E. tirucalli* de Rio das Ostras promoveu modificações de pH nas soluções, porém sem a detecção de cloro livre e de ácido cianúrico, o que sugere a possibilidade de estresse oxidativo leve, sem a ruptura da parede nem da membrana celular vegetal. Contudo, ao longo da semana de experimento conforme a temperatura e o pH das soluções aumentaram progressivamente, foram evidenciadas reações exotérmicas. As soluções mantiveram alcalinidade total mínima, reafirmando estresse oxidativo suave.

Já para as soluções submetidas aos extratos elicitores coletados em Búzios/RJ, ao longo da semana de ensaio a temperatura foi caindo (após ocorrer reações exotérmicas), o pH se elevou, com mínima taxa de cloro livre e ausência de ácido cianúrico. Por este motivo, não foi necessária a alcalinização compensatória para manutenção do equilíbrio hidroeletrolítico, conforme assinalado no Quadro 2:

*Quadro 2: Fatores abióticos medidos no primeiro, terceiro e sétimo dia de experimentação com extrato de E. tirucalli de Búzios como agente elicitor em sementes de V. unguiculata.*

| | temperatura | pH | Cloro livre | Alcalinidade | $(CNOH)_3$ |
|---|---|---|---|---|---|
| 1º dia | | | | | |
| água mineral | 25,9 | 6,2 | 0 | 40 | 0 |
| extrato 10% | 23,1 | 6,2 | 0 | 40 | 0 |
| extrato 1% | 22,7 | 6,8 | 0 | 40 | 0 |
| extrato 0,1% | 22,3 | 6,8 | 0 | 40 | 0 |
| 3º dia | | | | | |
| água mineral | 22,5 | 6,8 | 0 | 40 | 0 |
| extrato 10% | 22,5 | 6,8 | 0 | 40 | 0 |
| extrato 1% | 22,6 | 6,8 | 0,5 | 40 | 0 |
| extrato 0,1% | 22,6 | 6,8 | 0,5 | 40 | 0 |
| 7º dia | | | | | |
| água mineral | 18,2 | 6,8 | 0,5 | 80 | 0 |
| extrato 10% | 18,2 | 6,8 | 0,5 | 80 | 0 |
| extrato 1% | 18,2 | 6,8 | 0,5 | 80 | 0 |
| extrato 0,1% | 18,2 | 6,8 | 0 | 80 | 0 |

Desta forma, apesar da atividade química observada pelos fatores abióticos analisados, o fato de não haver germinação de sementes de *V. unguiculata*, uma vez que, pela literatura, tanto o feijão caupi quanto *E. tirucalli* são tolerantes à hipersalinidade, este resultado inesperado necessita ser esclarecido em termos de mecanismo de ação. Terá ocorrido apenas dormência por uma via inibitória de reguladores de crescimento/desenvolvimento vegetal ou uma inibição total da germinação?

Se a germinação tiver sido inibida, terá sido por qual mecanismo? Uma vez que ensaio anterior com fluências luminosas e UVB revelou a degradação de pigmentos fotossintéticos, poderá ter havido sobrecarga destes produtos de oxidação acarretando lesão de fotossistema e

ocasionando lesão irreversível? Poderá ter havido interferência no funcionamento da bomba sódio-potássio?

Diante desta variação verificada, devido à pouca disponibilidade de literatura com investigações sobre salinidade em *E. tirucalli* e em *V. unguiculata*, com aquelas existentes sendo ainda referências muito antigas, pensou-se na avaliação preliminar de um modelo alternativo de investigação metodológica no intuito de investigação de mecanismo de ação às questões que emergiram e nos intrigam.

Devido à grande possibilidade de sobrecarga salina inibindo a germinação das sementes, para confirmarmos esta hipótese, optamos por estabelecer um protocolo onde o espécime *E. tirucalli* viesse de um solo rico em antioxidantes sem hipersalinidade, oriundo de Seropédica/RJ/Brasil, um solo onde já existiu vulcão que atualmente se encontra extinto. Observar a ação deste extrato sobre as sementes e, em paralelo, adicionar a este mesmo extrato aquoso o produto natural marinho ultradiluído e dinamizado em baixa potência poderia ser uma metodologia alternativa de interesse.

Como seria o comportamento desta solução aquosa de caule total obtida de um outro extrato pedológico? Haveria diferença para este extrato total aquoso hormético (H)? E em que resultaria a introdução de solução ultradiluída e dinamizada (SUD) de produto marinho (naturalmente com maior índice de salinidade)? É o que discutiremos a seguir.

3.2.Experimento com SUD de *Spongia tosta* (esponja marinha):

Nossos resultados preliminares obtido de cultivo assistido de *V. unguiculata* exposto ao extrato aquoso de *E. tirucalli* adicionado com SUD5CH de *Spongia tosta* (um produto natural marinho) sugerem o desencadeamento de estresse salino através do mecanismo de bomba $Na^{++}/K^{+}$, portanto, com potencial efeito promissor também para fitodessalinização ambiental.

Foi observado que as sementes de feijão caupi, já no segundo dia, aumentaram de tamanho porque ingurgitaram, e aumentaram de peso, havendo liberação de odor amoniacal intenso para o cultivo com a dose ponderal de *E. tirucalli* $10^{-10}$ associada à SUD5CH *Spongia tosta*, com inibição significativa do número de hipocótilos emitidos ($p < 0,05$). Objetivamente, subtraímos o peso final do 7º dia ao do 1º dia - Quadro 2:

*Quadro 2: Nível de significância da variação de peso médio e do número de hipocótilos emitidas em cultivos com soluções-teste com soluções ultradiluídas, diluição ponderal de E. tirucalli de Seropédica, além de respectivos controles.*

| **Soluções/30sementes** | **P1**(g) | **P2**(g) | **X = P2 – P1** (g) | **Variação de peso (g) Significância** | **Número de hipocótilos** | **Significância** |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Água Mineral | 0,62 | 1,00 | 0,38 | - | 20 | *Controle* |
| SUD 10D Água Destilada | 0,62 | 1,00 | 0,38 | $p > 0,05$ | 02 | *Controle* |
| SUD 10D Etanol | 0,62 | 1,00 | 0,38 | $p > 0,05$ | 12 | *Controle* |
| SUD 10D *Spongia tosta* | 0,62 | 1,00 | 0,38 | $p > 0,05$ | 03 | $p < 0,05$ |
| *Euphorbia tirucalli* $10^{-10}$ (5H) | 0,62 | 1,00 | 0,38 | $p > 0,05$ | 14 | $p < 0,05$ |
| *E. tirucalli* 5H + SUD 10D *Sp t* | 0,62 | 2,00 | 1,38 | $p < 0,05$ | 05 | $p < 0,05$ |

Seis cultivos em decuplicata (N=30 por fileira). Totalizando N = 180 sementes de feijão Caupi. Média de dois experimentos. $7^0$ dia (P2) subtraindo ao $1^0$ dia (P1), e contagem do número de emissões de hipocótilos.

As soluções-teste ainda foram capazes de elevarem a temperatura em função das reações químicas naturalmente realizadas durante o processo elicitor de germinação, sugerindo que o estresse oxidativo pareceu-nos excessivo mesmo em mínimas dosagens, observação que se constituiu de interesse para nosso estudo (Quadro 3).

*Quadro 3: Índice de variação de temperatura em cultivos com soluções-teste com soluções ultradiluídas, diluição ponderal de E. tirucalli de Seropédica, além de respectivos controles.*

| **Soluções/30sementes por Cultivo** | **TAmb 1ºC** | **T1ºC** | **XT 1** | **TAmb2º C** | **T2ºC** | **XT 2** | **XT2 – XT1** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Água Mineral | 25 | 25 | 25,0 | 20 | 5/20;1/18/;4/19 | 19,4 | - 5,6 |
| SUD 10D Água destilada | 25 | 25 | 25,0 | 20 | 4/18;6/17 | 17,4 | - 7,6 |
| SUD 10D Álcool 30% | 25 | 24 | 24,5 | 20 | 5/18;5/20 | 19,0 | - 5,5 |
| SUD 10D *Spongia tosta* | 25 | 24 | 24,5 | 20 | 6/17;4/18 | 17,4 | - 7,1 |
| *Euphorbia tirucalli* $10^{-10}$ (ou 5H) | 25 | 24 | 24,5 | 20 | 1/17;5/19;4/18 | 18,4 | - 6,1 |
| *E.t* 5H + SUD 10D *Spongia tosta* | 25 | 24 | 24,5 | 20 | 1/17;9/18 | 17,9 | - 6,6 |

Seis cultivos em decuplicata (N=30 por fileira). (N = 180 sementes de feijão caupi). Temperatura para o primeiro dia (T1) e para o sétimo dia (T2). Além de respectivas temperaturas ambientes.

Extratos de *E. tirucalli* hormético (“H” - apenas diluído na concentração correspondente e não dinamizado) ou então aquele associado a SUD, foram capazes de induzir, em pequena quantidade, à produção de ácido cianúrico durante o metabolismo da *V. unguiculata*, possivelmente enquanto produto metabólito da via de estresse oxidativo pela rota do nitrogênio, uma explicação plausível também para a ocorrência de forte odor amoniacal exalado pelas soluções-teste nos recipientes com as sementes, nunca anteriormente observadas em nossos experimentos de cultivo. Este é o primeiro relato indicativo de estresse oxidativo por esta via, a via nitrogenada (Quadro 4).

*Quadro 4: Média aritmética (XpH) da variação de pH. Valores de cloro livre, da alcalinidade total e da presença de ácido cianúrico em cultivos com soluções ultradiluídas, diluição ponderal de E.tirucalli de Seropédica, além de respectivos controles.*

| **Soluções/30 sementes para cada cultivo** | **pH 1** | **pH 2** | **XpH** | **cloro livre** | **alcalinidade total** | **ácido cianúrico** |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Água Mineral do preparo das soluções | 6.5 | - | 6.5 | - | - | - |
| Água Mineral | 7.0 | 6.8 | 6.9 | zero | 180 | zero |
| SUD 10D Água destilada | 7.0 | 7.2 | 7.1 | zero | 180 | 30-50 |
| SUD 10D Etanol 30% | 7.0 | 7.2 | 7.1 | zero | 180 | zero |
| SUD 10D *Spongia tosta* | 7.0 | 7.2 | 7.1 | zero | 180 | zero |
| *Euphorbia tirucalli* $10^{-10}$ (ou 5H) | 7.0 | 7.2 | 7.1 | zero | 180 | 30-50 |
| *E.t* 5H + SUD 10D *Spongia tosta* | 7.0 | 6.8 | 6.9 | zero | 180 | 30-50 |

Seis cultivos em decuplicata (N=30 por fileira). (N = 180 sementes de feijão caupi). pH $1^0$ dia (pH1) e ao $7^0$ dia (pH2).

Entretanto, ambas soluções aqui estudadas visando a elicitação de sementes de *V. unguiculata* não foram elicitoras de germinação. Ao contrário, aparentemente estimularam à dormência e poderão vir a serem utilizadas para este fim, visando ao transporte de longas distâncias de sementes viáveis (Bellizzi et al., 2022).

Outrossim, nossos resultados sugerem também novo potencial em biotecnologia vegetal: Estas soluções poderão vir a serem investigadas como soluções herbicidas naturais, devido à detecção de incremento de ácido cianúrico, cujo mecanismo de ação já existe descrito na literatura (Procópio et al., 2009).

Este trabalho teve como objetivo discutir evidências de estresse oxidativo gerado a partir da produção química de *E. tirucalli* de Seropédica e da SUD de origem marinha sobre a germinação de sementes, através da análise de fatores abióticos. Ambas soluções-teste, ponderal e infinitesimal foram capazes de atuar na bomba sódio-

potássio, porém a SUD de origem marinha sugeriu um efeito sobre bomba salina que chamou atenção. Portanto, novos experimentos serão realizados estabelecendo curva dose-concentração para observação da atividade ótima destes extratos combinados, enquanto metodologia alternativa, com potencial emprego sustentável na agricultura bio-salina mas principalmente, também no sentido de fito-dessalinização, em um período crítico de rápidas mudanças climáticas, avanço do mar nas costas litorais, instabilidade do solo e acidentes climáticos.

Considerado halófita (planta tolerante ao sal), o gênero Euphorbia pode ser utilizado como cultura alternativa às culturas convencionais, e assim, a água de boa qualidade pode ser desviada para outras culturas cujos rendimentos são altamente produtivos. Isso resolverá, em parte, o problema de indisponibilidade de água. Nas últimas décadas, um novo conceito, de "Agricultura Biosalina" vem surgindo. Nele, diferentes plantas halófitas são cultivadas usando irrigação com água salina/salobra como substituta de plantas de cultivo convencionais. Desta forma, três questões principais podem ser resolvidas (Koyro et al., 2011):

1) Água salobra/salobra será usada para agricultura biossalina, e água de boa qualidade pode ser desviada para consumo humano e irrigação de cultivos glicofíticos de alto rendimento;
2) As halófitas não comestíveis podem ser utilizadas na limpeza ambiental, como fitorremediação de metais tóxicos, corantes têxteis etc.; fitodessalinização de solos afetados por sais; e equilíbrio ecológico.
3) A halófita pode ser utilizada como alimento (vegetal, óleo comestível), forragem/forragem, biocombustível, medicamentos, plantas ornamentais e paisagismo.

O movimento da água no sistema solo-planta-atmosfera acontece principalmente pela diferença de potencial. Havendo grande concentração de sais, o potencial osmótico torna-se mais negativo. Como a água se movimenta do maior para o menor potencial, a maior presença de sais na zona radicular dificulta o processo de absorção de água. Consequentemente, os estômatos se fecham para reduzir as perdas d'água pelo processo de transpiração. Esse fechamento estomático reduz a assimilação de gás carbônico pela planta e impacta diretamente na fotossíntese, com diminuição da conversão da luz solar e dos nutrientes absorvidos em energia, evento necessário para a produção de flores, frutos e grãos.

Dentre os diversos efeitos que o estresse salino causa na planta não tolerante ao sal, ocorre um maior impacto nos estádios iniciais de desenvolvimento das culturas: germinação, volume e comprimentos de raízes, massa seca. Além disso, a salinidade em espécimes já desenvolvidos pode gerar uma série de efeitos secundários, como a toxicidade. Os íons acumulados oxidam e "queimam" a borda das folhas.

A tolerância ou suscetibilidade da planta ao estresse salino dependerá não apenas de seus mecanismos próprios, mas de diversos outros fatores tais como concentração de sais, granulometria do solo, duração da exposição, espécie; estádio de desenvolvimento.

Para entender as ações mais efetivas para mitigar os efeitos do estresse salino e manejá-lo precocemente, é preciso encontrar mecanismos para sua mensuração. Um deles é através do parâmetro denominado Condutividade Elétrica (CE), que mede a capacidade da água ou solo em conduzir eletricidade e cresce proporcionalmente à medida que a concentração de sais aumenta.

Percebe-se, então, que a influência dos extratos obtidos de preparos da *E. tirucalli* depende, não apenas dos fatores elicitores próprios do vegetal (sazonalidade etc.), mas, também, das condições geográficas em que ocorreu seu desenvolvimento, do pH do solo, das alterações climáticas e a própria variação de salinidade (indicando que existe um limite a ser tolerado – Qual será?).

O mecanismo de ação para explicar este efeito prossegue sendo investigado por nosso grupo, bem como o grau de influência da origem geográfica, pedológica e geológica sobre estes resultados obtidos, uma vez que são distintos de nossos resultados prévios.

Retomando a questão central da hipersalinidade em nossos ensaios, portanto, os extratos avaliados também poderão agir como agentes de fitorremediação, via dessalinização, através do mecanismo da bomba sódio-potássio proposto (quiçá com potencial bioremediador), um mecanismo promissor e de interesse ambiental, em especial em áreas costeiras baixas, invadidas pelo mar, onde por diferentes motivos visa-se reduzir os impactos ambientais, e as vegetações deverão ser preservadas. *E. tirucalli* pode ser irrigada com água salobra/salina ou pode ser cultivada em terras agrícolas afetadas pelo sal, usada para ser utilizada como combustível, fibras, forragem e outros produtos de valor agregado (Glenn et al., 1999; Nikalje et al., 2018).

Perante os problemas ambientais existentes no planeta, cujas repercussões comprometem inúmeras populações de seres vivos, pela literatura observamos que enormes esforços convencionais e não convencionais estão sendo feitos para melhorar a tolerância ao sal nas lavouras, e, esses esforços resultaram em algumas variedades produtivas tolerantes ao sal. Além disso, a maior parte do

trabalho tem sido limitada ao nível de laboratório com poucos estudos em casa de vegetação ou em nível de campo. Nesse sentido, a domesticação de halófitas, naturalmente tolerantes ao sal, poderá fornecer uma opção melhor para mitigar a produção adequada de alimentos (Roy et al., 2014).

Produtos naturais que evocam estresse oxidativo fisiológico em sementes agem como fatores elicitores de germinação, também pela ativação de isoformas da proteinocinase C. Em estresse excessivo, podem ser modificadas as isoformas predominantes, ativando-se a citotoxicidade, inibindo assim algumas funções em sementes. O cultivo *in vitro* e em vasos de *E. tirucalli*, acompanhado pela marcação química vegetal por CLAE/UV, foi capaz de evidenciar as condições onde a mesma fica mais citotóxica à membrana celular, e menos tóxica ao solo, quando da presença dos diterpenos polihidroxilados, hidrofílicos (Varricchio, Silva, et al., 2008a).

Desta forma, constata-se a importância do estudo não apenas das características de cada vegetal, mas também um estudo e descrição acerca das circunstâncias e procedência em que ele vive, itens nem sempre descritos em trabalhos científicos em função da dificuldade que é a realização de uma pesquisa de campo e em ecofisiologia.

Extratos brutos aquosos, frios e aquecidos, de *E. tirucalli* do mangue da Ilha do Fundão (Baía de Guanabara) agiram como elicitores para germinação de *V. unguiculata*, por serem capazes de romper a película que envolve a semente de feijão Caupi, possivelmente também pela participação dos fungos que contaminam o tecido do espécime: *Rhizoctonia solani* e Verticillium sp., sugerindo o potencial de aproveitamento futuro de um bioproduto (Oliveira et al., 2019; Varricchio, 2008).

A partir da discussão destes resultados obtidos, surge como perspectiva futura, ensaios em laboratório e em campo para análise de remoção de sal de águas salobras, visando fitorremediação pela fitodessalinização, também empregando soluções diluídas e seus respectivos controles (solventes e extratos vegetais totais em doses ponderais correspondentes, horméticas).

A fitorremediação é uma tecnologia que utiliza plantas para retirar ou diminuir contaminantes do solo, da água ou do ar, com possibilidade de aplicabilidade econômica e eficaz (Salt et al., 1998). A literatura descreve a fitorremediação subdividida em seis áreas (Mejía et al., 2014):

- Fitoextração, que é o uso de plantas que acumulam em seus tecidos os poluentes extraídos sem que eles sejam eliminados ou degradados;

- Fitodegradação que é o uso das plantas e dos microrganismos a ela associados para degradar poluentes orgânicos, além de alguns compostos inorgânicos;

- Rizofiltração, que seria o uso das raízes das plantas para absorver os poluentes;

- Fitoestabilização que reduz a presença de poluentes;

- Fitovolatilização que extrai e volatiliza os poluentes

Os "wetlands construídos" (WC), também chamados de zonas úmidas construídas ou jardins filtrantes, espelham-se em zonas úmidas naturais, que são capazes de filtrar a água melhorando sua qualidade (Al-Baldawi et al., 2021). Uma nova forma de uso de plantas emergentes tem sido "*floating treatment wetlands"*, que consiste numa estrutura flutuante (como um tapete) onde as espécies emergentes são plantadas. Assim as folhas e brotos crescem acima do nível da água e as raízes ficam submersas. Desta maneira, as raízes, rizomas e microrganismos associados formam uma rede fornecendo a área necessária para que ocorram os processos de degradação e aprisionamento dos poluentes (Oliveira et al., 2021).

A partir de nossos ensaios, observações e discussão fundamentada, postulamos a hipótese de que *E. tirucalli*, possa atuar em jardins filtrantes de poluentes ambientais. Questionamos ainda quanto à existência de um potencial papel em fitovolatilização e isto merecerá ser investigado por químicos farmacêuticos que possuam maquinário apropriado.

Nosso grupo investigou a influência da variação geográfica, qual fator abiótico seria mais relevante como marcador de atividade em estudo de campo (ecofisiológico) além de termos investigado o mecanismo de ação para os resultados observados.

Para finalizarmos, propomos, então, a inserção de outros índices de avaliação técnica, prática, rápida e barata da participação de espécies vegetais durante a filtração em jardins flutuantes visando à avaliar a eficiência da fitorremediação para pequenos espaços e pequenos agricultores, sem acesso à tecnologia avançada. Quais sejam:

- A variação de Temperatura ($\Delta T$ = Temperatura final menos a Temperatura inicial) seria um indicador de reações químicas devido à atividade fitorremediadora processada;

- A detecção de ácido cianúrico como biomarcador, delineando o limite entre a atividade biológica normal e patológica que poderá levar a planta à oxidação e morte, inviabilizando o sistema de filtração.

- Pesagem e medida dos caules em função do mecanismo de ação provável de fitoextração para *E. tirucalli* devido à evidência de atuação via bomba sódio-potássio.

- Detecção dos níveis de sódio, potássio e pH na água retida no processo de filtração do jardim filtrante.

Através de uma visão ambiental construída interdisciplinarmente, sugerimos a investigação do potencial da participação de *E. tirucalli* em fitoextração salina, podendo ser bem empregada para dessalinizar ambientes costeiros degradados perante a rápida, progressiva e preocupante elevação do mar. Poderá ser uma alternativa contextualizada à questão climática-ambiental, tão discutida em nível mundial, portanto, de objetivo e de prático interesse em fitotecnologia.

## IV. COMENTÁRIOS FINAIS

Demais informações quanto ao emprego de *E. tirucalli* pelos povos de movimento em situação urbana no Rio de Janeiro/Brasil como cola (MIO VACITE – Comunicação oral, 2018), como material resistente (MACHADO-TUKANO, 2018 – Comunicação oral), dentre outros usos, estão disponíveis no sítio do Projeto Saúde Ambiental, Parasitologia, Bioética do Laboratório de Imunoparasitologia e Análises Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da UFRJ (https://sites.google.com/view/lipat) e no Relatório Oficial apresentado ao INPI (Varricchio & Lage, 2020).

Feijão Caupi (*Vigna unguiculata*), Feijão da praia ou Feijãozinho-da-índia, é espécie de elevado teor nutricional, rica em ferro, proteínas e carboidratos, dentre outros, muito importante em agricultura familiar no nordeste do Brasil e na região norte fluminense do estado do Rio de Janeiro. Estudos já demonstraram sua importância alimentar e suporte nutricional às famílias sob vulnerabilidade social e carência alimentar. Entretanto, a germinação em cultivo familiar é lenta e de baixa produtividade. Quando obtém sucesso, o transporte de uma região a outra do estado envolve taxa percentual elevada de perdas destas sementes, encarecendo o produto.

Por outro lado, possuindo tolerância natural a diferentes estresses bióticos e abióticos, as plantas halófitas podem sobreviver e florescer em condições adversas sem prejudicar o seu rendimento. Essas plantas polivalentes precisam ser examinadas quanto aos seus produtos e ao potencial uso na limpeza ambiental. Além disto, a domesticação dessas plantas com múltiplos usos pode ser priorizada para se tornar uma alternativa aos cultivos convencionais. Nos próximos anos, a agricultura biosalina certamente será uma grande promessa para complementar as práticas agrícolas sustentáveis, conforme já sinalizado pelos autores da área.

Valerá a pena investir na investigação científica quanto à efetividade da participação de diferentes espécies do gênero Euphorbia, endêmico no país, valorizando assim esta solução obtida pela observação da natureza, enfatizando-se aqui a notável contribuição de espécies da caatinga, exibindo seu potencial econômico para fins ecológicos.

Pensando em áreas com pouca água doce e potável disponível, averiguar o potencial biotecnológico de fitodessalinização de *E. tirucalli* como alternativa viável para resolução de problemas socioambientais agravantes e emergentes de populações humanas costeiras, representa uma ação em saúde ambiental e em ética ambiental.

Os autores declaram ausência de conflitos de interesses.

## REFERÊNCIAS

[1] Al-Baldawi, I. A., Mohammed, A. A., Mutar, Z. H., Abdullah, S. R. S., Jasim, S. S., Almansoory, A. F., & Ismail, N. 'Izzati. (2021). Application of phytotechnology in alleviating pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in wastewater: Source, impacts, treatment, mechanisms, fate, and SWOT analysis. *Journal of Cleaner Production*, *319*(July), 128584. https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.128584

[2] Bellizzi, G. M., Gaspar, S. A., Pyrrho, A. D. S., & Varricchio, M. C. B. N. (2022). Cultivos assistidos de Vigna unguiculata com extratos elicitores de E. tirucalli e SUD 5CH Spongia tosta and Hekla lava: Potencial Biotecnológico em bioremediação? *Resumo. Apresentação Oral Gravada Para X Evento SAPB-LIPAT & AIAM & UCB & INPI Convidam LAFFH, UESA, 7ª Enfermaria HGSCMRJ, ITEGAM - CBA*. https://doi.org/Disponivel em: https://sites.google.com/view/lipat/sapb-aulas_e_apres?authuser=0#h.deksas8vvzrf

[3] BRASIL - GOVERNO FEDERAL. (2021). *Brasil avança no setor de biocombustível - entrevista com José Mauro Coelho*. Julho. https://www.gov.br/pt-br/noticias/energia-minerais-e-combustiveis/2021/07/brasil-avanca-no-setor-de-biocombustiveis

[4] Dahmer, N., Conterato, I. F., & Schifino-wittmann, M. T. (2008). Considerações sobre o controverso e enigmático complexo Phaseolus-Vigna e suas espécies economicamente importantes. *R. Bras. Agrociência*, *14*(4), 8–18.

[5] Debez, A., Belghith, I., Friesen, J., Montzka, C., & Elleuche, S. (2017). Facing the challenge of sustainable bioenergy production: Could halophytes be part of the solution? *Journal of Biological Engineering*, *11*(1), 1–19. https://doi.org/10.1186/s13036-017-0069-0

[6] Eshel, A., Zilberstein, A., Alekparov, C., Eilam, T., Oren, I.,

Sasson, Y., Valentini, R., & Waisel, Y. (2010). Biomass production by desert halophytes : Alleviating the pressure on food production. *Recent Advances in Energy & Environment*, *June 2014*, 362–367.

[7] Fürstenberger, G., & Hecker, E. (1977). New highly irritant euphorbia factors from latex of Euphorbia tirucalli L. *Experientia*, *33*(8), 986–988. https://doi.org/10.1007/BF01945920

[8] Fürstenberger, G., & Hecker, E. (1986). On the Active Principles of the Euphorbiaceae, XII. Highly Unsaturated Irritant Diterpene Esters from Euphorbia Tirucalli Originating from Madagascar. *Journal of Natural Products*, *49*(3), 386–397. https://doi.org/10.1021/np50045a002

[9] Glenn, E. P., Brown, J. J., & Blumwald, E. (1999). Salt Tolerance and Crop Potential of Halophytes. In *Critical Reviews in Plant Sciences* (Vol. 18, Issue 2). https://doi.org/10.1080/07352689991309207

[10] Hunter, J. R. (1994). Reconsidering the functions of latex. *Trees*, *9*(1), 1–5. https://doi.org/10.1007/BF00197862

[11] Kathar, K. R., Wasim, N., Silva, S., Pyrrho, S., & Varricchio, M. C. B. N. (2023). *Constructed Wetlands : Technology for Removing Drug Concentration from Water Wetlands Construídos : Tecnologia Para Remoção da Concentração de Fármacos das Águas*. *6495*(4), 108–119.

[12] Kathiresan, K. (2012). International journal of marine science. *International Journal of Marine Science*, *2*(10), 70–89. https://doi.org/10.5376/ijms.

[13] Koivunen, J., Aaltonen, V., & Peltonen, J. (2006). Protein kinase C (PKC) family in cancer progression. *Cancer Letters*, *235*(1), 1–10. https://doi.org/10.1016/j.canlet.2005.03.033

[14] Koyro, H. W., Khan, M. A., & Lieth, H. (2011). Halophytic crops: A resource for the future to reduce the water crisis? *Emirates Journal of Food and Agriculture*, *23*(1), 1–16. https://doi.org/10.9755/ejfa.v23i1.5308

[15] Loreto, F., & Velikova, V. (2001). Isoprene produced by leaves protects the photosynthetic apparatus against ozone damage, quenches ozone products, and reduces lipid peroxidation of cellular membranes. *Plant Physiology*, *127*(4), 1781–1787. https://doi.org/10.1104/pp.010497

[16] Mejía, Paulo Victor Laguardia; Adreoli, Fabiana De Nadai; Andreoli, Cleverson V; Serrat, B. M. (2014). Metodologia para Seleção de Técnica de Fitorremediação em Áreas Contaminadas. *Revista Brasileira de Ciências Ambientais – Número*, *31*, 97–104. https://doi.org/h

[17] Milanez, F. R., & Monteiro Neto, H. (1956). Origem dos laticíferos do embrião de Euphorbia pulcherrima, Willd. *Revista Jardim Botanico Do Rio de Janeiro*, 351–425. https://biostor.org/reference/178065

[18] Musmano, P. G., Delaunay, N., Brioso, P., Castelo Branco, M. T. L., Kuster, R. M., & Varricchio, M. C. B. N. (2019). *Estudos comparativos da germinação de Vigna unguiculata com extrato de Euphorbia tirucalli do litoral do Rio de Janeiro - Resumo. XXVII Semana Científica FMP/UNIFASE. RJ, Petrópolis. Outubro, 2019.*

[19] Mwine, J., & van Damme, P. (2011). Euphorbia tirucalli L. (Euphorbiaceae)-the miracle tree: Current status of available knowledge. *Scientific Research and Essays*, *6*(23), 4905–4914. https://doi.org/10.5897/SRE10.1143

[20] Nikalje, G. C., Srivastava, A. K., Pandey, G. K., & Suprasanna, P. (2018). Halophytes in biosaline agriculture: Mechanism, utilization, and value addition. *Land Degradation and Development*, *29*(4), 1081–1095. https://doi.org/10.1002/ldr.2819

[21] OLIVEIRA, Franciane Soares de, & OLIVEIRA, G. F. dos S. (2021). Fitorremediação: uso de plantas como agentes despoluidores no tratamento de efluentes sanitários. *Revista Científica Multidisciplinar Núcleo Do Conhecimento*, *02*, 23–47.

[22] Oliveira, L. L. de, Machado, C. V. da S., Musmanno, P. G., Pinto, M. D. D. C. A., Varricchio, M. T., & Varricchio, M. C. B. N. (2019). *Farmacobotânica e pesquisa biotecnológica para sustentabilidade: Sensibilização, Impressão, Questão, Solução, Produção* (1st ed.). https://sites.google.com/view/lipat/sapb-livros?authuser=0

[23] Pennell, R. I., & Lamb, C. (1997). Programmed cell death in plants. *Plant Cell*, *9*(7), 1157–1168. https://doi.org/10.1105/tpc.9.7.1157

[24] Pinto, M. D. D. C. de A. (2019). Comparação do efeito de extratos de E. tirucalli sobre a germinação de Vigna unguiculata. I Jornada de Produtos Naturais e Bioprodutos dos alunos do Extensão FMPFase (CFQ e Cursos). *RJ: Petrópolis: FMPFase*.

[25] Procópio, S. de O., Pires, F. R., Santos, J. B. dos, & Silva, A. A. da. (2009). PROCÓPIO, S. de O.; PIRES, F. R.; SANTOS, J. B. dos & SILVA, A. A. da. Fitorremediação de Solos com Resíduos de Herbicidas. . Aracaju, SE. 2009. *EMBRAPA TABULEIROS COSTEIROS - Http://Www.Cpatc.Embrapa.Br/Publicacoes_2009/Doc_156 .Pdf*.

[26] Roy, S. J., Negrão, S., & Tester, M. (2014). Salt resistant crop plants. *Current Opinion in Biotechnology*, *26*, 115–124. https://doi.org/10.1016/j.copbio.2013.12.004

[27] Salt, D. E., Smith, R. D., & Raskin, I. (1998). Phytoremediation. Annual review of plant physiology. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, *49*, 643–668. http://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.arplant.49.1.643

[28] Sharma, R., Wungrampha, S., Singh, V., Pareek, A., & Sharma, M. K. (2016). Halophytes as bioenergy crops. *Frontiers in Plant Science*, *7*(September), 1–8. https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01372

[29] Varricchio, M C B N, & Laje, C. L. de S. (2020). Análise quanto à efetividade da legislação sobre o acesso ao patrimônio genético brasileiro, a proteção e o acesso ao conhecimento tradicional associado, enquanto uso sustentável da biodiversidade. *Instituto Nacional de Propriedade Intelectual*, 1–23.

https://sites.google.com/view/lipat/sapb-artigos#h.phiqv323b8w6

[30] Varricchio, M C B N, Ormelez, E. G., Silva, S. da, Sato, A., Henriques, A. B., & Lage, C. L. S. (2008b). Euphorbia Tirucalli: Análise quantitativa do desenvolvimento vegetal durante o cultivo in vitro. *Revista de Biologia e Farmácia*, *03*, 1–23.

[31] Varricchio, M C B N, Silva, S. da, Gomes, N. B. N., Kuster, R. M., & Lage, C. L. S. (2008a). O uso de Euphorbia tirucalli (aveloz) em medicina tradicional e as evidências científicas. *Revista de Biologia e Farmácia*, *3*(1). https://www.researchgate.net/publication/271514170

[32] Varricchio, M C B N, Varricchio, M. T., Nigri, A., & Lage, C. L. de S. (2022). *Efeito quânticos de fluências luminosas sobre E. tirucalli: Marcadores químicos e biológicos para desenvolvimento vegetal - Resumo. Apresentação oral gravada para X Evento SAPB-LIPAT & AIAM & UCB & INPI convidam LAFFH, UESA, 7ª Enfermaria HGSCMRJ, ITEGAM* . https://sites.google.com/view/lipat/sapb-aulas_e_apres?authuser=0#h.62mz98jnuxw0

[33] Varricchio, Márcia C.B.N. (2008). " Euphorbia tirucalli L : Metabólitos Especiais , Biotecnologia , Toxicologia , Atividades Antitumoral e Adaptógena ". *Universidade Federal Do Rio de Janeiro Programa de Pós-Graduação Em Biotecnologia Vegetal*. https://sites.google.com/view/lipat/sapb-livros